7 月 July
2020, 63(7): 889 - 901

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2020.07.012

# 节肢动物内共生菌 *Wolbachia* 的研究进展

朱翔宇[1,2,3,#], 尤士骏[1,2,3,#,*], 刘天生[1,2,3], 张 玲[1,2,3], 尤民生[1,2,3]

(1. 福建农林大学应用生态研究所, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002;
2. 福建农林大学, 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州 350002;
3. 福建农林大学, 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福州 350002)

**摘要**: 沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 为母系传播的胞内共生菌,可通过对宿主产生多种调控方式扩大其自身在宿主种群的传播。据推测,有 40% ~60% 的节肢动物都感染有 *Wolbachia*,并可根据不同株系间的系统发育关系将其分为多个超群。为了有助于深入研究 *Wolbachia* 对其宿主的调控方式及其调控机制及提出更为有效的害虫生物防治策略,本文综述了节肢动物内共生菌 *Wolbachia* 的研究现状。1924 年 *Wolbachia* 被报道首次发现于尖音库蚊 *Culex pipiens* 的生殖组织中,1971 年确认其与宿主的胞质不亲和现象有关。*Wolbachia* 可以通过胞质不亲和、杀雄、雌性化、孤雌生殖等作用方式调控宿主的生殖。除生殖调控之外,*Wolbachia* 对宿主的调控方式还包括调控宿主新陈代谢、抵制病原菌、影响宿主生殖力等。*Wolbachia* 调控的胞质不亲和现象可用"修饰-营救"(modification-rescue)模型解释,且已有与 *Wolbachia* 诱导宿主胞质不亲和相关的功能基因被报道。*w*Mel 株系是首个公布全基因组序列的 *Wolbachia* 株系,随后又有数十种不同株系的 *Wolbachia* 基因组陆续被破译。*w*Mel 株系 *Wolbachia* 可起到抑制登革热病毒传播的作用;同时,*Wolbachia* 和昆虫不育技术的结合对白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 野外种群起到良好的控制效果。鉴于目前节肢动物内共生菌 *Wolbachia* 的研究现状,我们认为未来应开展以下研究:(1) *Wolbachia* 基因组及生殖调控作用关键功能基因的研究;(2) *Wolbachia* 与宿主间互作机制的研究;(3) *Wolbachia* 在生物防治方面的应用。

**关键词**: 节肢动物; *Wolbachia*; 生殖调控; 基因组; 功能基因; 生物防治

**中图分类号**: Q965.8  **文献标识码**: A  **文章编号**: 0454-6296(2020)07-0889-13

## Research progress on *Wolbachia* endosymbionts in arthropods

ZHU Xiang-Yu[1,2,3,#], YOU Shi-Jun[1,2,3,#,*], LIU Tian-Sheng[1,2,3], ZHANG Ling[1,2,3], YOU Min-Sheng[1,2,3]
(1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian and Taiwan Crops, Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Joint International Research Laboratory of Ecological Pest Control, Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Key Laboratory of Integrated Pest Management for Fujian-Taiwan Crops, Ministry of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract**: *Wolbachia* is maternally inherited endosymbionts that can expand their propagation in host populations by means of various manipulations. It is estimated that 40% -60% of arthropods are infected with *Wolbachia*, which can be divided into multiple supergroups based on the phylogenetic relationships among different strains. To facilitate further studying the *Wolbachia*-mediated manipulation of hosts and associated mechanisms and developing more effective *Wolbachia*-based biological control strategies, in

基金项目: 国家自然科学基金项目(3197170268); 海峡博士后交流资助计划项目(201806)
作者简介: 朱翔宇, 女, 1996 年 1 月生, 河南南阳人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子生态学与害虫综合治理, E-mail: 527288639@qq.com; 尤士骏, 男, 1985 年 5 月生, 福建泉州人, 副教授, 研究方向为昆虫分子生态学与害虫综合治理, E-mail: sjyou@fafu.edu.cn
[#]共同第一作者 Authors with equal contribution
[*]通讯作者 Corresponding author, E-mail: sjyou@fafu.edu.cn
收稿日期 Received: 2019-11-29; 接受日期 Accepted: 2020-03-06

this article we made a systematical review of the research progress on *Wolbachia*. *Wolbachia* was first identified in the reproductive tissue of *Culex pipiens* in 1924 and verified to be associated with cytoplasmic incompatibility of hosts in 1971. *Wolbachia* can manipulate host reproduction through cytoplasmic incompatibility, male-killing, feminization, and parthenogenesis. In addition to reproductive manipulation, *Wolbachia* also affects metabolism, pathogen resistance, and fertility of hosts. The cytoplasmic incompatibility induced by *Wolbachia* can be interpreted by the "modification-rescue" model, and some functional genes involved in cytoplasmic incompatibility have been reported. *w*Mel is the first *Wolbachia* strain whose genome was published, and dozens of *Wolbachia* strains were genomically sequenced afterwards. The *w*Mel strain can inhibit the transmission of dengue virus, and integration of *Wolbachia* strains with sterile technology has shown promising effects in controlling field populations of *Aedes albopictus*. In view of the research progress on *Wolbachia*, future studies are suggested to focus on the following aspects: (1) *Wolbachia* genome and functional genes involved in reproductive regulation; (2) host-*Wolbachia* interactions and associated mechanisms; (3) application of *Wolbachia* in biological control programs.

**Key words**: Arthropods; *Wolbachia*; reproductive manipulation; genome; function gene; biological control

节肢动物体内存在着种类繁多的微生物,这些微生物分布于节肢动物的不同器官或部位,包括节肢动物的肠道、生殖系统等。微生物与其宿主间的共生关系十分复杂,同时受到各种环境因素和宿主遗传背景的影响;许多微生物对宿主也具有重要的调控作用,包括对宿主新陈代谢的调控作用(Darby *et al*., 2012)、宿主生殖系统的调控作用(Hurst *et al*., 1999; 刘颖等, 2010; Harumoto and Lemaitre, 2018)等。

相比于胞外共生菌,胞内共生菌的种类要少得多。胞内共生菌位于宿主细胞内,主要通过母系细胞质进行垂直传播,且多数无法离体培养,这些特性使得对胞内共生菌的研究工作更具难度。但正是由于母系垂直传播的特性,某些共生菌在进化过程中为了扩大自身在宿主种群中的传播,对宿主的生殖系统产生了调控作用,一种较为显著的现象就是使宿主种群的性别比率发生明显变化(Engelstädter and Hurst, 2009)。近年来,研究人员们发现多种内共生菌对宿主的调控作用是多方面的,包括调控宿主的行为(Dion *et al*., 2011)、免疫(Gross *et al*., 2009; Nyholm and Graf, 2012)、新陈代谢(McCutcheon *et al*., 2009)、进化(Brucker and Bordenstein, 2012)等。沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 作为一种兼性内共生菌,因其分布广泛、对宿主具有多种调控作用,成为研究最广泛的内共生菌之一。

*Wolbachia* 最初被发现于尖音库蚊 *Culex pipiens* 的生殖组织中(Hertig and Wolbach, 1924),属立克次氏体目 α-变形菌门,革兰氏阴性菌。随后通过抗生素消除处理证实宿主的胞质不亲和现象和该菌有关(Yen and Barr, 1971),接着陆续发现 *Wolbachia* 具有杀雄、雌性化、孤雌生殖等其他生殖调控作用,使其逐渐成为研究热点。*Wolbachia* 存在于许多节肢动物尤其是昆虫中,包括库蚊 *Culex* (Hertig and Wolbach, 1924; 宋社吾等, 2002)、伊蚊 *Aedes* (Trpis *et al*., 1981)、果蝇 *Drosophila* (Klasson *et al*., 2009; 熊恩娟等, 2014)、寄生蜂(刘宏岳等, 2009; Monnin *et al*., 2017)、小菜蛾 *Pletella xylostella* (Delgado and Cook, 2009)、褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (屈吕宇等, 2013)等,其中有多种昆虫属于农业害虫及疾病媒介昆虫。*Wolbachia* 在昆虫中的广泛分布及其对宿主的调控作用被认为具有良好的生物防治应用前景。

迄今为止该内共生菌已有近百年的研究历史,在 Web of Science 上以"*Wolbachia*"为关键词搜索可以发现 1950 年后的相关研究报道已经超过 5 300 篇;特别是进入 21 世纪后的研究工作突飞猛进,相关研究报道超过 5 000 篇,涉及生化与分子生物学、基因遗传学、进化生物学以及寄生生物学等多个方面。在该共生菌被发现及命名后,其研究工作迅速发展,尤其是其对不同宿主物种的生殖调控作用及通过对该菌的某种调控方式可达到对某些疾病媒介宿主物种的防控从而减少某些疾病的传播,受到更多的研究人员重视并开展相关的研究工作。

本文主要对近年来节肢动物内共生细菌 *Wolbachia* 与宿主间相互作用关系的研究进展做一个回顾和综述,重点是阐述 *Wolbachia* 对宿主的调控

作用及调控方式，*Wolbachia* 基因组相关研究进展及在生物防治的应用研究进展，并对未来的研究方向提出展望。

## 1 *Wolbachia* 对宿主的感染

*Wolbachia* 是一种在节肢动物中普遍存在的内共生菌。据推测，有 40% ~60% 的节肢动物都感染有 *Wolbachia*（Hilgenboecker *et al*., 2008；Zug and Hammerstein, 2012）。目前有大量不同宿主中 *Wolbachia* 感染情况检测及系统发育分析的相关研究报道：Ahmad 等（2017）在白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 中检测到的感染率为雄虫 98.6%，雌虫 95.1%；娄恒等（2015）在不同地理种群的花蓟马 *Frankliniella intonsa* 中检测到的感染率为 0 ~60%；李绍建等（2019）在不同地理种群的棉蚜 *Aphis gossypii* 中检测到的感染率为 6.67% ~46.67%。但其对 *Wolbachia* 感染率的检测数据都远远低估了其在自然界中的感染率。主要原因如下：（1）有的物种感染有 *Wolbachia*，但由于感染率较低、取样量有限，存在样本中未检测到 *Wolbachia* 感染但自然种群中存在 *Wolbachia* 的情况；（2）目前检测 *Wolbachia* 感染的方法主要是通过 PCR 扩增 *Wolbachia* 的细菌表面蛋白基因 *wsp*（Zhou *et al*., 1998），而在 PCR 扩增过程中可能会因操作不当等主观原因存在假阴性现象。

采用多位点序列分型分析（multilocus sequence typing, MLST）的方法，构建不同株系间的系统发育关系，可以把 *Wolbachia* 分为多个超群（supergroup）（Baldo *et al*., 2006），目前研究报道最多的是 A ~D 超群。不同的昆虫物种与不同的 *Wolbachia* 超群间可能存在某种特殊的“适应性”，如 A, B, E, G, H, I, K, M, N, O, P 和 Q 超群感染的宿主都是节肢动物（Lefoulon *et al*., 2016）；C 和 D 超群感染的宿主是线虫（Darby *et al*., 2012；Lefoulon *et al*., 2016）；F 超群感染的宿主既有线虫也有节肢动物（Lefoulon *et al*., 2016）；鳞翅目昆虫感染的 *Wolbachia* 多属于 A 超群和 B 超群，而且大多都属于 B 超群（Tagami and Miura, 2004；Ahmed *et al*., 2016）。

## 2 *Wolbachia* 对宿主的调控作用

### 2.1 生殖调控

*Wolbachia* 对宿主的调控作用一直是 *Wolbachia* 相关研究中的热点，而且由于它在生物防治方面的应用前景，受到研究人员的高度关注（表 1）。目前已有记载的 *Wolbachia* 对宿主的生殖调控方式主要有 4 种，分别是胞质不亲和、杀雄、雌性化及孤雌生殖（图 1：A）。

**2.1.1** 胞质不亲和：胞质不亲和，即感染雄性个体与未感染雌性个体之间交配后产的卵无法发育为正常个体。胞质不亲和又分为单向不亲和与双向不亲和两种形式。单向不亲和是指感染雄性个体与未感染雌性个体间交配不亲和，但感染雌性个体与未感染雄性个体间交配则是亲和的；双向不亲和是指感染不同互相不亲和 *Wolbachia* 株系时，感染雄性个体与未感染雌性个体间及感染雌性个体与未感染雄性个体间的交配都是不亲和的。

胞质不亲和是 *Wolbachia* 在节肢动物中记载最多的一种生殖调控方式（Werren *et al*., 2008）。虽然胞质不亲和的分子机制目前仍不清楚，但细胞学的相关研究显示，被感染后父系染色体凝集异常且在第一次有丝分裂时期异常分离，导致胚胎死亡（Serbus *et al*., 2008）。在一些昆虫宿主中（Dobson *et al*., 2001；Riegler and Stauffer, 2002；Merçot and Charlat, 2004），胞质不亲和可用“修饰-营救”（modification-rescue）模型解释：*Wolbachia* 修饰（modification）感染雄性个体的精子使其丧失生殖功能，且这种修饰作用只有在与感染同种 *Wolbachia* 的雌性个体卵子融合时才可以被营救（rescue）（Werren, 1997；Charlat *et al*., 2001）。

LePage 等（2017）假设 *Wolbachia* 的基因组中存在与其胞质不亲和作用有关的功能基因，并通过比较基因组学等方法鉴定出了果蝇中 *Wolbachia* 的数个噬菌体 WO 基因与其胞质不亲和作用有关；Zheng 等（2019）结合昆虫不育技术通过田间试验证实了 *Wolbachia* 胞质不亲和作用可以成功应用于生物防治。

**2.1.2** 杀雄：杀雄，即宿主感染 *Wolbachia* 雌性个体的雄性后代被杀死在发育早期（通常发生在卵期，也可以发生在 1 龄幼虫期），从而出现明显偏向于雌性的性比失衡现象。

Hurst 等（1999）发现二星瓢虫 *Adalia bipunctata* 和非洲珍蝶 *Acraea encedon* 中存在具杀雄作用的 *Wolbachia* 株系，可以将雄性宿主个体杀死于胚胎发育时期；随后在甲虫 *Tribolium madens*（Fialho and Stevens, 2000）、幻紫斑蛱蝶 *Hypolimnas bolina*（Dyson *et al*., 2002）、果蝇 *Drosophila innubila*（Dyson *et al*., 2002；Dyer and Jaenike, 2004）等物种中陆续发现具有杀雄作用的 *Wolbachia* 株系。

**表 1 内共生菌 *Wolbachia* 参与宿主调控的相关研究**
**Table 1 Case studies on the *Wolbachia*-involved manipulation of hosts**

| 宿主 Hosts | | 调控作用 Regulation | 参考文献 References |
|---|---|---|---|
| 双翅目 Diptera | 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* | 胞质不亲和 Cytoplasmic incompatibility (CI) | Mercot and Charlat, 2004 |
| | 拟果蝇 *Drosophila simulans* | 胞质不亲和 CI | Mercot and Charlat, 2004 |
| | 白纹伊蚊 *Aedes albopictus* | 胞质不亲和 CI | Dobson *et al*., 2001 |
| | 南美按实蝇 *Anastrepha fraterculus* | 性比失衡 Sex ratio distortion | Conte *et al*., 2019 |
| | 黑腹果蝇 *D. melanogaster* | 杀雄 Male killing | Perlmutter *et al*., 2019 |
| 鳞翅目 Lepidoptera | 小菜蛾 *Plutella xylostella* | 性比失衡 Sex ratio distortion | Delgado and Cook, 2009 |
| | 幻紫斑蛱蝶 *Hypolimnas bolina* | 杀雄/胞质不亲和 Male killing/CI | Dyson *et al*., 2002; Charlat *et al*., 2006; Hornett *et al*., 2008 |
| | 北黄粉蝶 *Eurema mandarina* | 雌性化 Feminization | Hiroki *et al*., 2002 |
| | 豆秆野螟 *Ostrinia scapulalis* | 杀雄 Male killing | Kageyama and Traut, 2004 |
| | 酢浆灰蝶 *Zizeeria maha* | 胞质不亲和 CI | Sumi *et al*., 2017 |
| | 地中海斑螟 *Ephestia kuehniella* | 胞质不亲和 CI | Lewis *et al*., 2011 |
| 半翅目 Hemiptera | 温带臭虫 *Cimex lectularius* | 提供营养物质 Supplement nutrition | Hosokawa *et al*., 2010 |
| | *Zyginidia pullula* | 雌性化 Feminization | Negri *et al*., 2006 |
| | 灰飞虱 *Laodelphax striatellus* | 提供营养物质 Supplement nutrition | Ju *et al*., 2019 |
| | 褐飞虱 *Nilaparvata lugens* | 提供营养物质 Supplement nutrition | Ju *et al*., 2019 |
| | 灰飞虱 *L. striatellus* | 胞质不亲和 CI | Yoshida *et al*., 2019 |
| 膜翅目 Hymenoptera | *Leptopilina clavipes* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | Pannebakker *et al*., 2004 |
| | *Muscidifurax uniraptor* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | Gottlieb *et al*., 2002 |
| | 赤眼蜂 *Trichogramma* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | Stouthamer and Kazmer, 1994 |
| | 丽蚜小蜂 *Encarsia formosa* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | Wang *et al*., 2017 |
| 缨翅目 Thysanoptera | *Franklinothrips vespiformis* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | Arakaki *et al*., 2001 |
| | *Hercinothrips femoralis* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | Kumm and Moritz, 2008 |
| 鞘翅目 Coleoptera | 黑拟谷盗 *Tribolium madens* | 杀雄 Male killing | Fialho and Stevens, 2000 |
| 等足目 Isopoda | *Armadillidium vulgare* | 雌性化 Feminization | Werren, 1997 |

有学者对杀雄作用提出以下假说：*Wolbachia* 可使其感染雌性个体从未感染雄性个体的死亡中获得某种“好处”：这种“好处”可能是近亲繁殖的减少或资源竞争力的下降(Hurst and Majerus, 1993)，Elnagdy 等(2011)在瓢虫中的相关研究结果符合该种假说。Riparbelli 等(2012)发现，在果蝇中 *Wolbachia* 的杀雄作用跟染色质异常重排有关；Harumoto 等(2018)发现，在果蝇中杀雄 *Wolbachia* 会导致 DNA 损伤及雄性胚胎形成时期的不正常细胞死亡，这跟果蝇中另一具杀雄作用的共生菌 *Spiroplasma* 的杀雄作用极为相似，不同的是未发现 *Wolbachia* 对雄性胚胎的神经发育有明显影响。

*Wolbachia* 杀雄作用的分子机制尚不清楚。由于杀雄作用跟多种因素相关，且 *Wolbachia* 不是具有杀雄作用的唯一共生物，其他共生物如 *Spiroplasma* (Harumoto and Lemaitre, 2018) 等也具有杀雄作用，这使得对该种生殖调控方式的研究更具挑战性。

**2.1.3** 雌性化：雌性化是指基因型为雄性表型却为雌性的一种现象，它是 *Wolbachia* 对宿主生殖系统调控的另一种方式。*Wolbachia* 调控的雌性化最典型例子发现于甲壳纲等足目鼠妇 *Armadillidium vulgare* (Juchault *et al*., 1992; Cordaux *et al*., 2004)，在雌性为异性配子的叶蝉(Negri *et al*., 2006)和鳞翅目昆虫中也有相关研究报道。

雌性化的具体机制目前尚不清楚。鳞翅目昆虫性别决定机制较为特殊，雌性为异性配子，在鳞翅目中 *Wolbachia* 诱导产生的雌性化应是基因型雄性(ZZ)表型雌性的个体。*Wolbachia* 在鳞翅目昆虫中的雌性化最早发现于 *Eurema mandarina* (Hiroki *et al*., 2002)；Narita 等(2007)通过对不同龄期的 *E. mandarina* 幼虫喂食抗生素，发现经抗生素喂食后发育的成虫在翅、生殖系统及生殖器上表现出明显的中性特征，且这些中性特征在 1 龄幼虫期喂食处理后发育的成虫上最为显著；但 *E. mandarina* 中的雌性化似乎比预期中的情况更为复杂，感染雌性化 *w*Fem 株系 *Wolbachia* 的雌性个体只有 1 条 Z 染色体，并不是假想中的 ZZ 型雌性个体(Kern *et al*., 2015)；随后的研究证实 *w*Fem 株系 *Wolbachia* 可以

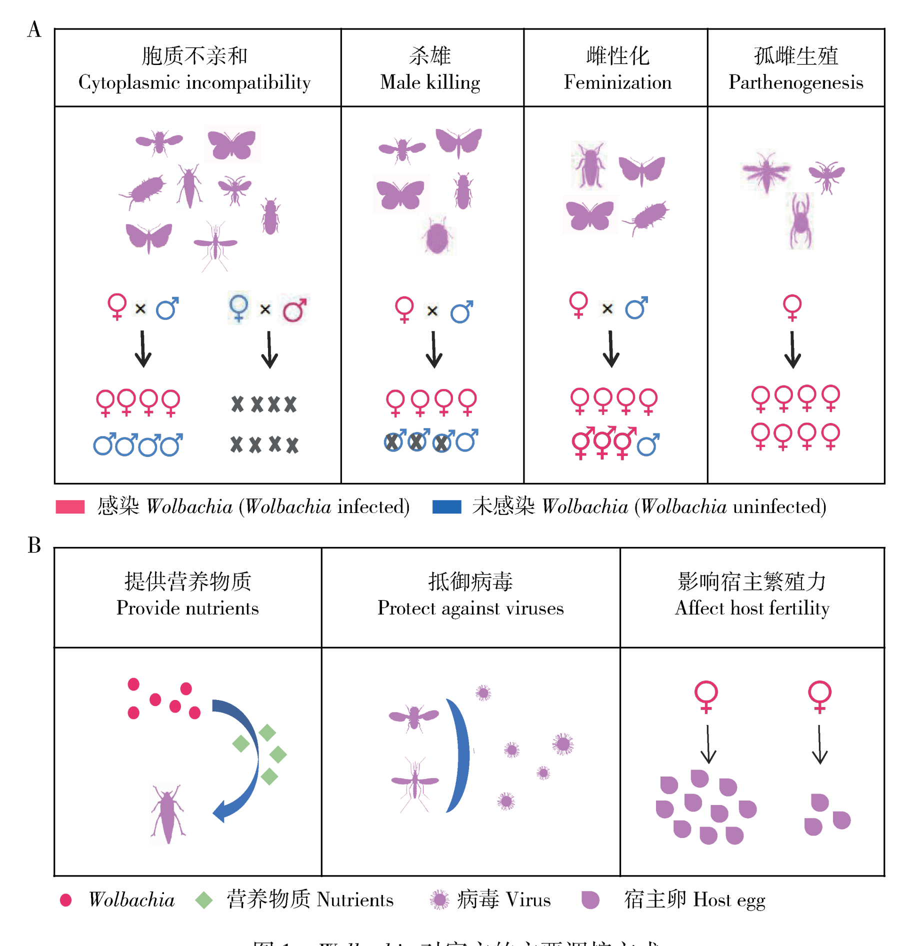



图 1　*Wolbachia* 对宿主的主要调控方式

Fig. 1　*Wolbachia*-induced manipulation on hosts

A：*Wolbachia* 对宿主的主要生殖调控作用方式（改自 Duplouy and Hornett，2018）*Wolbachia*-induced reproductive manipulation on hosts (adapted from Duplouy and Hornett 2018)；B：*Wolbachia* 对宿主的其他调控方式 Other *Wolbachia*-induced manipulation on hosts.

扰乱感染雌性个体中 Z 染色体的遗传（Kageyama *et al.*，2017）。

2.1.4　孤雌生殖：与胞质不亲和类似，*Wolbachia* 引起的孤雌生殖会扰乱早期胚胎发育时期的正常细胞周期（Werren *et al.*，2008）。诱导孤雌生殖的 *Wolbachia* 株系主要被发现于膜翅目，在螨类及缨翅目中也有记载（Arakaki *et al.*，2001；Weeks and Breeuwer，2001）。孤雌生殖可分为产雄孤雌生殖和产雌孤雌生殖，而 *Wolbachia* 被认为是引起产雌孤雌生殖的常见微生物之一。

孤雌生殖 *Wolbachia* 株系在超群 A 和 B 中都有研究报道，这些株系的作用机制不尽相同（Stouthamer *et al.*，1993）。在赤眼蜂 *Trichogramma* 和 *Leptopilina clavipes* 中，细胞学研究表明其孤雌生殖是由于第一次胚胎细胞分裂时期的染色体不正常分离（Stouthamer and Kazmer，1994；Pannebakker *et al.*，2004）；Gottlieb 等（2002）比较了产雌孤雌生殖物种 *Muscidifurax uniraptor* 的早期胚胎发育时期与其联系较为紧密的产雄物种 *Muscidifurax raptorellus* 的未受精的卵发育时期，发现 *M. uniraptor* 中的二倍体恢复时期与之前描述的 *Wolbachia* 产雌孤雌生殖的时期不同；另一较为特别的孤雌生殖机制发现于一种植食螨类 *Bryobia* 中，抗生素处理显示苜蓿苔螨 *Bryobia praetiosa* 及另一未鉴别物种中，孤雌生殖直接与 *Wolbachia* 感染相关，微卫星位点显示该孤雌生殖是功能性的单性生殖而不是配子复制（Weeks and Breeuwer，2001）。

在目前已有的研究报道中，*Wolbachia* 引起的孤雌生殖都与单倍二倍体性别决定机制有关，即单倍体卵发育为雄性，双倍体卵发育为雌性的特殊性别决定机制。大体而言，孤雌生殖 *Wolbachia* 株系可引起未受精的单倍体卵形成双倍体卵，并发育成雌性子代。

**2.2　其他调控方式**

除了 *Wolbachia* 的 4 种常见生殖调控方式外，另有相关研究报道了不同 *Wolbachia* 株系的一些其他

调控方式。例如调控宿主新陈代谢、抵制病原菌、影响宿主行为及生殖力等(图 1：B)。

*Wolbachia* 是一种兼性内共生菌,在一些节肢动物物种中可为其宿主提供生长发育、繁殖所必需的营养物质。如在温带臭虫 *Cimex lectularius* 中,*Wolbachia* 可为其宿主提供 B 族维生素(Nikoh *et al.*, 2014);在灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 和褐飞虱 *N. lugens* 中,*Wolbachia* 可为其宿主补充 B 族维生素(Ju *et al.*, 2019)。

Hedges 等(2008)发现 *Wolbachia* 感染有利于提高果蝇的免疫力,影响病毒感染。随后有研究报道 *Wolbachia* 感染能帮助宿主抵抗 RNA 病毒,提高果蝇对病毒的抗性(Teixeira *et al.*, 2008; Osborne *et al.*, 2009; Martinez *et al.*, 2014)。有研究人员先后将 *w*AlbB, *w*MelPop 及 *w*Mel 株系 *Wolbachia* 转染入埃及伊蚊 *Ades aegypti* 中;相关研究显示,转染 *Wolbachia* 后的埃及伊蚊传播登革热病毒的能力显著下降(Xi *et al.*, 2005; McMeniman *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2009; Walker *et al.*, 2011)。随后,研究人员将转染了相关株系 *Wolbachia* 后的埃及伊蚊在野外释放观察其生防效果,*w*MelPop 株系因其对宿主寿命及生殖力方面的影响被认为不适合于野外释放,Hoffmann 等(2011)证实 *w*Mel 株系在野外释放可以抑制登革热病毒在埃及伊蚊中的传播。

也有研究报道 *Wolbachia* 可影响宿主的行为及繁殖力。Vavre 等(1999)发现赤眼蜂 *Trichogramma bourarachae* 中 *Wolbachia* 的存在可引起其繁殖力的提高;Fleury 等(2000)发现在果蝇寄生蜂 *Leptopilina heterotoma* 中,*Wolbachia* 感染使其繁殖力、成虫存活率及移动能力显著下降;Vala 等(2004)发现在二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 中 *Wolbachia* 感染个体相比于未感染个体优先配对。

## 3 *Wolbachia* 基因组的研究

目前对 *Wolbachia* 与其宿主间相互作用的研究,大多数停留在生物学或生理学的水平上,尚缺关于互作机理的深入研究报道。为了深入揭示 *Wolbachia* 与其宿主间相互作用的机理,需要借助分子水平和基因水平的研究手段及其相关资料的综合分析。然而由于 *Wolbachia* 是胞内共生菌,至今无法离体培养(Mavingui *et al.*, 2005),如何获得相关株系基因组数据一直是相关研究中的难题。

如何获取足量、纯净的 *Wolbachia* DNA 是 *Wolbachia* 基因组测序的关键及难点所在。传统的方法是先通过细胞培养获取包含 *Wolbachia* 的宿主细胞,再通过一些方法对 *Wolbachia* DNA 进行分离及纯化。分离纯化方法包括差速离心、微孔过滤、renografin 连续密度梯度离心法、DNase 处理、RNase 处理等(Sun *et al.*, 2001; Klasson *et al.*, 2009; Iturbe-Ormaetxe *et al.*, 2011)。近年来,随着测序技术及生物信息学的飞速发展,提取宿主整虫 DNA 用于测序的方法得以实现(Darby *et al.*, 2012)。

利用 *Wolbachia* 作为生防菌对宿主昆虫进行遗传改造,需要对 *Wolbachia* 与其宿主相互作用的分子机制开展深入研究(表 2)。以果蝇为宿主的 *w*Mel 株系是首个公布全基因组序列的 *Wolbachia* 株系,该基因组大小约为 1.27 Mb,最显著的特征是有大量重复序列及可移动元件,这在胞内生活的物种中是较为罕见的(Wu *et al.*, 2004);以线虫为宿主的 *w*Bm 株系基因组相比于 *w*Mel 株系,没有前噬菌体,重复序列也较少(Foster *et al.*, 2005);以蚊子为宿主、具胞质不亲和调控作用的 *w*Pip 株系基因组大小为 1.48 Mb,相比于 *w*Mel 株系和 *w*Bm 株系具有更多的前噬菌体及 ANK(ankyrin repeat encoding)基因,为 ANK 编码基因及前噬菌体区域的快速进化提供了证据(Klasson *et al.*, 2008);随后陆续又报道了一些不同宿主及株系的 *Wolbachia* 基因组,包括以果蝇为宿主的胞质不亲和 *w*Ri 株系、*w*Ha 株系、*w*No 株系、*w*Au 株系等。随着基因组的不断公布,促进了 *Wolbachia* 基因组及功能基因的研究。

如图 2 所示,*Wolbachia* 基因组主要包括编码基因、tRNA、rRNA、重复序列及可移动元件(Wu *et al.*, 2004; Foster *et al.*, 2005; Klasson *et al.*, 2008, 2009; Darby *et al.*, 2012)。WO 噬菌体首次报道于 2000 年,Masui 等(2000)通过不同株系的系统发育学研究证明该噬菌体是活跃的,且在不同株系间可以水平传播。LePage 等(2017)通过比较基因组学和转基因等手段从果蝇 *w*Mel 基因组中鉴定出 2 个与胞质不亲和作用相关的前噬菌体 WO 基因,*cifA* 和 *cifB*; Perlmutter 等(2019)通过比较基因组学、转基因、细胞学研究等手段从果蝇 *Wolbachia* 前噬菌体 WO 中鉴定出一个基因 *wmk*,该基因可以导致早期胚胎的雄性特异性致死及细胞水平上典型的杀雄症状。这些发现引起了研究人员们对 *Wolbachia* 基因组中可移动元件的重视,Reveillaud 等(2019)首次从以尖音库蚊 *Culex pipiens* 为宿主的 *Wolbachia* 基因组中鉴定出质粒并命名为 pWCP,该质粒为 14 个

**表 2　*Wolbachia* 基因组相关研究**

**Table 2　Case studies related to the genomes of *Wolbachia***

| 株系 Strains | 宿主 Hosts | 调控方式 Regulation mode | 大小(Mb) Size | GC 含量(%) GC content | 基因组特征 Genome features | 参考文献 References |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *w*Mel | 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* | 胞质不亲和 Cytoplasmic incompatibility (CI) | 1.27 | 35.2 | 存在大量重复序列和可移动元件 Large numbers of repetitive sequences and mobile elements | Wu *et al*., 2004 |
| *w*Bm | 马来丝虫 *Brugia malayi* | 生存及生殖所需 Required for survival and fertility | 1.08 | 34.2 | 无前噬菌体,重复序列较少 No prophage, small numbers of repetitive sequences | Foster *et al*., 2005 |
| *w*Pip | 尖音库蚊 *Culex pipiens* | 胞质不亲和 CI | 1.48 | 34.2 | 存在大量前噬菌体及 ANK 基因 Large numbers of prophage regions and ankyrin repeat encoding (ANK) genes | Klasson *et al*., 2008 |
| *w*Ri | 拟果蝇 *Drosophila simulans* | 胞质不亲和 CI | 1.45 | 35.2 | 存在大量重复序列和可移动元件 Large numbers of repetitive sequences and mobile elements | Klasson *et al*., 2009 |
| *w*Oo | *Onchocerca ochengi* | 新陈代谢和防御作用 Metabolic and defensive roles | 0.96 | 32.1 | 基因组小,GC 含量低 Small-size genome with low GC content | Darby *et al*., 2012 |
| *w*Ha | 拟果蝇 *D. simulans* | 尚不明确 Unknown | 1.29 | 35.3 | 存在前噬菌体及重复序列 Prophage regions and repetitive sequences | Ellegaard *et al*., 2013 |
| *w*No | 拟果蝇 *D. simulans* | 尚不明确 Unknown | 1.30 | 34.0 | 存在前噬菌体及重复序列 Prophage regions and repetitive sequences | Ellegaard *et al*., 2013 |
| *w*Au | 拟果蝇 *D. simulans* | 不能诱导或"营救"胞质不亲和 Unable to induce or rescue CI | 1.26 | 35.2 | 存在大量重复序列及可移动元件 Large numbers of repetitive sequences and mobile elements | Sutton *et al*., 2014 |
| *w*Cle | 温带臭虫 *Cimex lectularius* | 提供营养物质 Supplement nutrition | 1.25 | 36.3 | 存在重复序列及可移动元件 Repetitive sequences and mobile elements | Nikoh *et al*., 2014 |
| *w*Tpre | 食胚赤眼蜂 *Trichogramma pretiosum* | 孤雌生殖 Parthenogenesis | 1.13 | 33.9 | 存在大量 ANK 基因 Large numbers of ankyrin repeat encoding (ANK) genes | Lindsey *et al*., 2016 |
| *w*AlbB | 白纹伊蚊 *Aedes albopictus* | 抵御病毒 Against the virus | 1.48 | 34.4 | 存在大量插入序列 Large numbers of insertion sequences | Sinha *et al*., 2019 |

基因组成的 9.23 kb 环状质粒。

对于 *Wolbachia* 基因组的深入研究,为揭示不同株系 *Wolbachia* 系统发育关系(Wu *et al*., 2004; Brelsford *et al*., 2014)、研究 *Wolbachia* 与其宿主间相互作用的分子机制(Darby *et al*., 2012; LePage *et al*., 2017)等奠定了基础。

## 4　*Wolbachia* 在生物防治中的应用

*Wolbachia* 对宿主的生殖调控作用在很早以前就被认为具有生防应用前景,率先开始生防应用相关研究的是胞质不亲和。早在 1967 年,就有研究人员试图把 *Wolbachia* 应用到害虫的生物防治中。在尖音库蚊的相关研究中,Laven(1967)在笼子中放置比例为 1∶1的正常雄性个体与不亲和雄性个体,经过 3~4 代后可以达到对尖音库蚊的预期防控效果,且在后续小规模田间试验中观察到卵不孵化的比率升高。但在 1982 年的一项田间试验中,Curtis 等通过室内饲养携带胞质不亲和 *Wolbachia* 株系的雄性蚊子并释放于野外后并未获得理想的生防效果(Curtis *et al*., 1982)。*Wolbachia* 胞质不亲和作用的生防应用试验长期不能成功开展的原因主要是:把

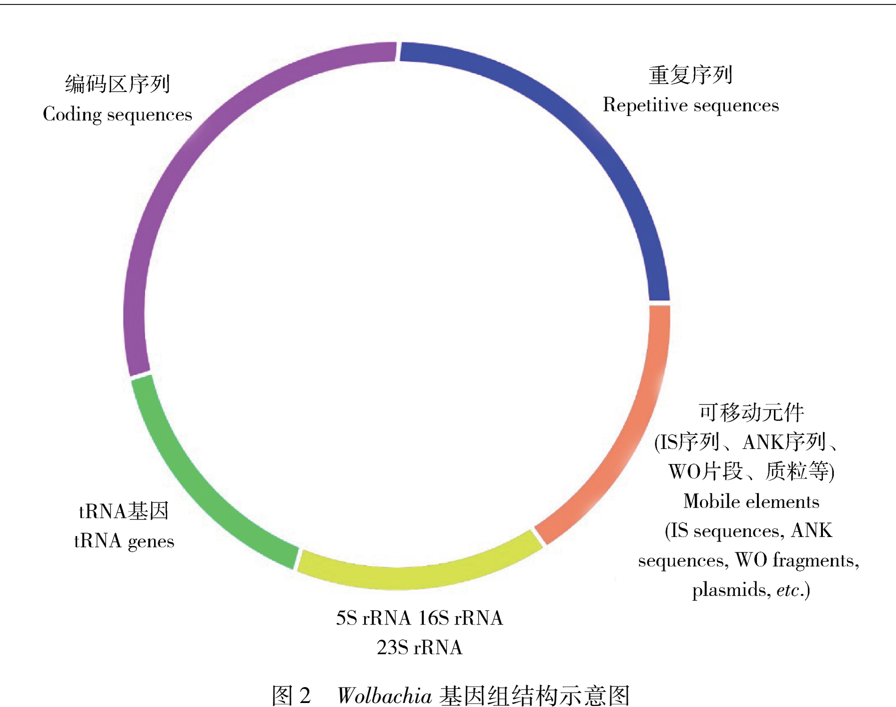



图 2 *Wolbachia* 基因组结构示意图
Fig. 2 Schematic diagram of the *Wolbachia* genome

携带具胞质不亲和作用 *Wolbachia* 株系的实验室饲养种群释放到自然种群中,在短时期内确实可以观察到自然种群数量的减少。但由于释放的 *Wolbachia* 感染雌性个体是可育的,有替代自然种群的风险,因此很难达到持续、长期的生防效果(Curtis *et al*., 1982; Dobson *et al*., 2002)。同时,释放到野外的携带 *Wolbachia* 雄性个体与自然种群中雄性个体间的竞争也是一个备受研究人员关注的问题(Chambers *et al*., 2011; Zhang *et al*., 2015, Atyame *et al*., 2016)。Chambers 等(2011)在半野外环境(semi-field conditions)中同时释放野生型蚊子及感染胞质不亲和株系 *Wolbachia* 的雄性蚊子,调查携带 *Wolbachia* 雄性蚊子的配对竞争力,研究结果表明,在半野外环境中释放感染胞质不亲和株系 *Wolbachia* 的雄性蚊子确实会对蚊子种群产生抑制作用。Atyame 等(2016)对基于辐射的昆虫不育技术(sterile insect technique, SIT)及基于 *Wolbachia* 的昆虫不亲和技术(incompatible insect technique, IIT)进行了比较,其研究结果表明在实验条件下,昆虫不亲和技术相比于昆虫不育技术表现出更高的效率。近期,研究人员结合基于辐射的昆虫不育技术及可产生胞质不亲和作用的 *Wolbachia* 株系,通过胚胎注射技术对白纹伊蚊进行改造后,在后续田间试验中发现:持续两年相比于对照点,释放改造后蚊子的试验点野生蚊子的数量锐减率可达90%(Zheng *et al*., 2019)。这项成功得到了《Nature》杂志的专题报道,同时进一步肯定了 *Wolbachia* 的生防前景。

除胞质不亲和外,*Wolbachia* 在果蝇中可提高宿主对 RNA 病毒抗性的现象也引起了研究人员的关注。埃及伊蚊可携带登革热等虫媒病毒,将自然宿主为果蝇的 *w*Mel 株系 *Wolbachia* 转染入埃及伊蚊后于野外释放可起到抑制登革热病毒传播的作用(Hoffmann *et al*., 2011)。此外,*Wolbachia* 的其他几种生殖调控作用也被认为具有良好的生物防治应用前景,部分研究人员试图通过对 *Wolbachia* 生殖调控作用分子机制的深入研究来寻找关键功能基因,目前在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中已有胞质不亲和及杀雄的相关功能基因被报道(LePage *et al*., 2017; Perlmutter *et al*., 2019),这也为研究人员提供了对于 *Wolbachia* 生物防治及遗传改造应用前景的更多思路:*Wolbachia* 的不同生殖调控作用能否更为广泛地应用于更多农业害虫及疾病媒介昆虫的生物防治中?不同的生殖调控作用是否都存在着相关关键功能基因?将已证明在某些宿主种群中生防效果良好的 *Wolbachia* 株系转染进其他宿主种群后生防效果如何?随着测序技术、细胞生物学及生物信息学的飞速发展,不同宿主不同株系的 *Wolbachia* 基因组不断破译,相信相关机制会逐渐被阐明,相关应用前景会逐渐被拓宽。

## 5 小结与展望

*Wolbachia* 在一些农业害虫及疾病媒介昆虫物

种中广泛分布，且其具有胞质不亲和、杀雄、雌性化及孤雌生殖等生殖调控方式，因而一直被认为具有害虫生物防治和基因工程防治应用前景；同时，*Wolbachia* 对昆虫性别决定机制的影响也一直备受研究人员关注。但是，由于 *Wolbachia* 为胞内共生菌、无法离体培养、基因组数据难以获取等原因，*Wolbachia* 与宿主的相互作用机制研究相对较少。目前大量相关研究工作都围绕 *Wolbachia* 在不同昆虫物种中的分子检测及系统发育关系分析方面展开（陶云荔等，2015；李菁等，2018）；也有部分研究人员使用抗生素消除的方法研究消除 *Wolbachia* 对宿主生殖的影响（李培光等，2015），这为后续对 *Wolbachia* 生殖调控的深入研究提供了基础。近年来，借助于测序技术及生物信息学的飞速发展，使得用宿主整虫测序后分离获得 *Wolbachia* 基因组的方法得以实现，这可能会大大加速相关研究的进程；细胞学相关研究方法的进步也使得 *Wolbachia* 的细胞培养更具可行性，通过细胞培养获得含有 *Wolbachia* 的原代细胞后，有助于后续的研究工作（包括基因组测序等）。

迄今为止，*Wolbachia* 的 4 种生殖调控方式都有相关的研究报道，也提出了一些相应的理论假说，但很多方面还不够完善。近期有研究人员利用胞质不亲和作用结合昆虫不育技术在田间试验并获得成功，为 *Wolbachia* 的生殖调控作用及其可以成功应用于生物防治提供了有利证据。随着 *Wolbachia* 基因组、生殖调控作用关键功能基因以及 *Wolbachia* 与宿主间作用机制的研究进一步展开，*Wolbachia* 在生物防治及基因工程防治方面的应用将成为未来的主要研究方向。今后，通过寻找 *Wolbachia* 生殖调控作用关键功能基因以及阐明 *Wolbachia* 与宿主间的作用机制，将会促进农学、医学、遗传学等相关研究领域的快速发展。

## 参考文献（References）


Ahmad NA, Vythilingam I, Lim YaL, Zabari N, Lee HL, 2017. Detection of *Wolbachia* in *Aedes albopictus* and their effects on chikungunya virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 96(1): 148 – 156.

Ahmed MZ, Breinholt JW, Kawahara AY, 2016. Evidence for common horizontal transmission of *Wolbachia* among butterflies and moths. *BMC Evol. Biol.*, 16(1): 118.

Arakaki N, Miyoshi T, Noda H, 2001. *Wolbachia*-mediated parthenogenesis in the predatory thrips *Franklinothrips vespiformis* (Thysanoptera: Insecta). *Proc. Biol. Sci.*, 268(1471): 1011 – 1016.

Atyame CM, Labbé P, Lebon C, Weill M, Moretti R, Marini F, Gouagna LC, Calvitti M, Tortosa P, 2016. Comparison of irradiation and *Wolbachia* based approaches for sterile-male strategies targeting *Aedes albopictus*. *PLoS ONE*, 11(1): e0146834.

Baldo L, Dunning Hotopp JC, Jolley KA, Bordenstein SR, Biber SA, Choudhury RR, Hayashi C, Maiden MC, Tettelin H, Werren JH, 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(11): 7098 – 7110.

Brelsfoard C, Tsiamis G, Falchetto M, Gomulski LM, Telleria E, Alam U, Doudoumis V, Scolari F, Benoit JB, Swain M, Takac P, Malacrida AR, Bourtzis K, Aksoy S, 2014. Presence of extensive *Wolbachia* symbiont insertions discovered in the genome of its host *Glossina morsitans morsitans*. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 8(4): e2728.

Brucker RM, Bordenstein SR, 2012. Speciation by symbiosis. *Trends Ecol. Evol.*, 27(8): 443 – 451.

Chambers EW, Hapairai L, Peel BA, Bossin H, Dobson SL, 2011. Male mating competitiveness of a *Wolbachia*-introgressed *Aedes polynesiensis* strain under semi-field conditions. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 5(8): e1271.

Charlat S, Calmet C, Merçot H, 2001. On the *mod resc* model and the evolution of *Wolbachia* compatibility types. *Genetics*, 159(4): 1415 – 1422.

Charlat S, Engelstädter J, Dyson EA, Hornett EA, Duplouy A, Tortosa P, Davies N, Roderick GK, Wedell N, Hurst GD, 2006. Competing selfish genetic elements in the butterfly *Hypolimnas bolina*. *Curr. Biol.*, 16(24): 2453 – 2458.

Conte CA, Segura DF, Milla FH, Augustinos A, Cladera JL, Bourtzis K, Lanzavecchia SB, 2019. *Wolbachia* infection in Argentinean populations of *Anastrepha fraterculus* sp1: preliminary evidence of sex ratio distortion by one of two strains. *BMC Microbiol.*, 19 (Suppl. 1): 289.

Cordaux R, Michel-Salzat A, Frelon-Raimond M, Rigaud T, Bouchon D, 2004. Evidence for a new feminizing *Wolbachia* strain in the isopod *Armadillidium vulgare*: evolutionary implications. *Heredity (Edinb)*, 93(1): 78 – 84.

Curtis C, Brooks G, Ansari M, Grover KK, Krishnamurthy B, Rajagopalan P, Sharma L, Sharma V, Singh D, Singh K, 1982. A field trial on control of *Culex quinquefasciatus* by release of males of a strain integrating cytoplasmic incompatibility and a translocation. *Entomol. Exp. Appl.*, 31(2 – 3): 181 – 190.

Darby AC, Armstrong SD, Bah GS, Kaur G, Hughes MA, Kay SM, Koldkjaer P, Rainbow L, Radford AD, Blaxter ML, Tanya VN, Trees AJ, Cordaux R, Wastling JM, Makepeace BL, 2012. Analysis of gene expression from the *Wolbachia* genome of a filarial nematode supports both metabolic and defensive roles within the symbiosis. *Genome Res.*, 22(12): 2467 – 2477.

Delgado AM, Cook JM, 2009. Effects of a sex-ratio distorting endosymbiont on mtDNA variation in a global insect pest. *BMC Evol. Biol.*, 9: 49.

Dion E, Polin SE, Simon JC, Outreman Y, 2011. Symbiont infection

affects aphid defensive behaviours. *Biol. Lett.*, 7(5): 743–746.

Dobson SL, Fox CW, Jiggins FM, 2002. The effect of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility on host population size in natural and manipulated systems. *Proc. Biol. Sci.*, 269(1490): 437–445.

Dobson SL, Marsland EJ, Rattanadechakul W, 2001. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility in single- and superinfected *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 38(3): 382–387.

Duplouy A, Hornett EA, 2018. Uncovering the hidden players in lepidoptera biology: the heritable microbial endosymbionts. *PeerJ*, 6: e4629.

Dyer KA, Jaenike J, 2004. Evolutionarily stable infection by a male-killing endosymbiont in *Drosophila innubila*: molecular evidence from the host and parasite genomes. *Genetics*, 168(3): 1443–1455.

Dyson EA, Kamath MK, Hurst GDD, 2002. *Wolbachia* infection associated with all-female broods in *Hypolimnas bolina* (Lepidoptera: Nymphalidae): evidence for horizontal transmission of a butterfly male killer. *Heredity* (*Edinb*), 88(3): 166–171.

Ellegaard KM, Klasson L, Naslund K, Bourtzis K, Andersson SG, 2013. Comparative genomics of *Wolbachia* and the bacterial species concept. *PLoS Genet.*, 9(4): e1003381.

Elnagdy S, Majerus ME, Handley LJ, 2011. The value of an egg: resource reallocation in ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) infected with male-killing bacteria. *J. Evol. Biol.*, 24(10): 2164–2172.

Engelstädter J, Hurst GDD, 2009. The ecology and evolution of microbes that manipulate host reproduction. *Annu. Rev. Ecol., Evol. Syst.*, 40: 127–149.

Fialho RF, Stevens L, 2000. Male-killing *Wolbachia* in a flour beetle. *Proc. Biol. Sci.*, 267(1451): 1469–1473.

Fleury F, Vavre F, Ris N, Fouillet P, Boulétreau M, 2000. Physiological cost induced by the maternally-transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Parasitology*, 121(Pt 5): 493–500.

Foster J, Ganatra M, Kamal I, Ware J, Makarova K, Ivanova N, Bhattacharyya A, Kapatral V, Kumar S, Posfai J, Vincze T, Ingram J, Moran L, Lapidus A, Omelchenko M, Kyrpides N, Ghedin E, Wang S, Goltsman E, Joukov V, Ostrovskaya O, Tsukerman K, Mazur M, Comb D, Koonin E, Slatko B, 2005. The *Wolbachia* genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode. *PLoS Biol.*, 3(4): e121.

Gottlieb Y, Zchori-Fein E, Werren JH, Karr TL, 2002. Diploidy restoration in *Wolbachia*-infected *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 81(3): 166–174.

Gross R, Vavre F, Heddi A, Hurst G, Zchori-Fein E, Bourtzis K, 2009. Immunity and symbiosis. *Mol. Microbiol.*, 73(5): 751–759.

Harumoto T, Fukatsu T, Lemaitre B, 2018. Common and unique strategies of male killing evolved in two distinct *Drosophila* symbionts. *Proc. Biol. Sci.*, 285(1875): 20172167.

Harumoto T, Lemaitre B, 2018. Male-killing toxin in a bacterial symbiont of *Drosophila*. *Nature*, 557(7704): 252–255.

Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN, 2008. *Wolbachia* and virus protection in insects. *Science*, 322(5902): 702.

Hertig M, Wolbach SB, 1924. Studies on rickettsia-like micro-organisms in insects. *J. Med. Res.*, 44(3): 329–347.

Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH, 2008. How many species are infected with *Wolbachia*? – A statistical analysis of current data. *FEMS Microbiol. Lett.*, 281(2): 215–220.

Hiroki M, Kato Y, Kamito T, Miura K, 2002. Feminization of genetic males by a symbiotic bacterium in a butterfly, *Eurema hecabe* (Lepidoptera: Pieridae). *Naturwissenschaften*, 89(4): 167–170.

Hoffmann AA, Montgomery BL, Popovici J, Iturbe-Ormaetxe I, Johnson PH, Muzzi F, Greenfield M, Durkan M, Leong YS, Dong Y, Cook H, Axford J, Callahan AG, Kenny N, Omodei C, McGraw EA, Ryan PA, Ritchie SA, Turelli M, O'Neill SL, 2011. Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. *Nature*, 476(7361): 454–457.

Hornett EA, Duplouy AM, Davies N, Roderick GK, Wedell N, Hurst GD, Charlat S, 2008. You can't keep a good parasite down: evolution of a male-killer suppressor uncovers cytoplasmic incompatibility. *Evolution*, 62(5): 1258–1263.

Hosokawa T, Koga R, Kikuchi Y, Meng XY, Fukatsu T, 2010. *Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(2): 769–774.

Hurst GD, Majerus ME, 1993. Why do maternally inherited microorganisms kill males? *Heredity* (*Edinb*), 71(1): 81–95.

Hurst GDD, Jiggins FM, von der Schulenburg JHG, Bertrand D, West SA, Goriacheva II, Zakharov IA, Werren JH, Stouthamer R, Majerus MEN, 1999. Male-killing *Wolbachia* in two species of insect. *Proc. Biol. Sci.*, 266(1420): 735–740.

Iturbe-Ormaetxe I, Woolfit M, Rancès E, Duplouy A, O'Neill SL, 2011. A simple protocol to obtain highly pure *Wolbachia* endosymbiont DNA for genome sequencing. *J. Microbiol. Meth.*, 84(1): 134–136.

Ju JF, Bing XL, Zhao DS, Guo Y, Xi Z, Hoffmann AA, Zhang KJ, Huang HJ, Gong JT, Zhang X, Hong XY, 2019. *Wolbachia* supplement biotin and riboflavin to enhance reproduction in planthoppers. *ISME J.*, 14(3): 676–687.

Juchault P, Rigaud T, Mocquard JP, 1992. Evolution of sex-determining mechanisms in a wild population of *Armadillidium vulgare* Latr. (Crustacea, Isopoda): competition between two feminizing parasitic sex factors. *Heredity* (*Edinb*), 69(4): 382–390.

Kageyama D, Ohno M, Sasaki T, Yoshido A, Konagaya T, Jouraku A, Kuwazaki S, Kanamori H, Katayose Y, Narita S, Miyata M, Riegler M, Sahara K, 2017. Feminizing *Wolbachia* endosymbiont disrupts maternal sex chromosome inheritance in a butterfly species. *Evol. Lett.*, 1(5): 232–244.

Kageyama D, Traut W, 2004. Opposite sex-specific effects of *Wolbachia* and interference with the sex determination of its host *Ostrinia*

*scapulalis*. *Proc. Biol. Sci.*, 271(1536): 251 – 258.

Kern P, Cook JM, Kageyama D, Riegler M, 2015. Double trouble: combined action of meiotic drive and *Wolbachia* feminization in *Eurema* butterflies. *Biol. Lett.*, 11(5): 20150095.

Klasson L, Walker T, Sebaihia M, Sanders MJ, Quail MA, Lord A, Sanders S, Earl J, O'Neill SL, Thomson N, Sinkins SP, Parkhill J, 2008. Genome evolution of *Wolbachia* strain *w*Pip from the *Culex pipiens* group. *Mol. Biol. Evol.*, 25(9): 1877 – 1887.

Klasson L, Westberg J, Sapountzis P, Näslund K, Lutnaes Y, Darby AC, Veneti Z, Chen L, Braig HR, Garrett R, Bourtzis K, Andersson SG, 2009. The mosaic genome structure of the *Wolbachia* *w*Ri strain infecting *Drosophila simulans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(14): 5725 – 5730.

Kumm S, Moritz G, 2008. First detection of *Wolbachia* in arrhenotokous populations of thrips species (Thysanoptera: Thripidae and Phlaeothripidae) and its role in reproduction. *Environ. Entomol.*, 37(6): 1422 – 1428.

Laven H, 1967. Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility. *Nature*, 216(5113): 383 – 384.

Lefoulon E, Bain O, Makepeace BL, d'Haese C, Uni S, Martin C, Gavotte L, 2016. Breakdown of coevolution between symbiotic bacteria *Wolbachia* and their filarial hosts. *PeerJ*, 4: e1840.

LePage DP, Metcalf JA, Bordenstein SR, On J, Perlmutter JI, Shropshire JD, Layton EM, Funkhouser-Jones LJ, Beckmann JF, Bordenstein SR, 2017. Prophage WO genes recapitulate and enhance *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility. *Nature*, 543(7644): 243 – 247.

Lewis Z, Champion de Crespigny FE, Sait SM, Tregenza T, Wedell N, 2011. *Wolbachia* infection lowers fertile sperm transfer in a moth. *Biol. Lett.*, 7(2): 187 – 189.

Li J, Wang YZ, Zhang XF, Liu J, Bai MH, Wang ZY, 2018. Detection and identification of *Wolbachia* in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae) in Xinjiang, northwestern China. *Acta Entomol. Sin.*, 61(5): 555 – 564. [李菁, 汪洋洲, 张小飞, 刘津, 白明皓, 王振营, 2018. 新疆地区亚洲玉米螟中 *Wolbachia* 共生菌的检测和鉴定. 昆虫学报, 61(5): 555 – 564]

Li PG, Qiu SQ, Ye BH, Wang NX, Huang DW, 2015. Influence of removing *Wolbachia* on the reproductive fitness and adult longevity of *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Acta Entomol. Sin.*, 58(9): 966 – 972. [李培光, 邱仕祺, 叶保华, 王宁新, 黄大卫, 2015. 去除 *Wolbachia* 对丽蝇蛹集金小蜂繁殖适合度和成蜂寿命的影响. 昆虫学报, 58(9): 966 – 972]

Li SJ, Gao M, Wang N, Cui XW, Sang SL, Fan WW, Wang ZY, 2019. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) populations from different areas of Henan province, central China. *Acta Entomol. Sin.*, 62(2): 77 – 83. [李绍建, 高蒙, 王娜, 崔小伟, 桑素玲, 范腕腕, 王振宇, 2019. 河南不同地区棉蚜种群共生菌 *Wolbachia* 的检测及系统发育分析. 昆虫学报, 62(2): 77 – 83]

Lindsey AR, Werren JH, Richards S, Stouthamer R, 2016. Comparative genomics of a parthenogenesis-inducing *Wolbachia* symbiont. *G3* (*Bethesda*), 6(7): 2113 – 2123.

Liu HY, Song Y, Wang Z, Shen ZR, 2009. Distribution of *Wolbachia* in different geographical populations of *Trichogramma ostriniae* in China. *Chin. Bull. Entomol.*, 46(2): 266 – 271. [刘宏岳, 宋月, 王哲, 沈佐锐, 2009. *Wolbachia* 在我国不同地理种群的玉米螟赤眼蜂中的分布. 昆虫知识, 46(2): 266 – 271]

Liu Y, Xie RR, Hong XY, 2010. Manipulation of symbiont *Cardinium* on the reproduction of the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). *Acta Entomol. Sin.*, 53(11): 1233 – 1240. [刘颖, 谢蓉蓉, 洪晓月, 2010. 共生菌 *Cardinium* 对朱砂叶螨的生殖调控作用. 昆虫学报, 53(11): 1233 – 1240]

Lou H, Chen YT, Zhang YK, Yang XM, Sun JT, Hong XY, 2015. *Wolbachia* infection and its relationship with mtDNA diversity in the flower thrips, *Frankliniella intonsa* (Thysanoptera: Thripidae). *Acta Entomol. Sin.*, 58(7): 750 – 760. [娄恒, 陈雅婷, 张艳凯, 杨现明, 孙荆涛, 洪晓月, 2015. *Wolbachia* 在花蓟马中的感染及其与寄主线粒体 DNA 多样性的关系. 昆虫学报, 58(7): 750 – 760]

Martinez J, Longdon B, Bauer S, Chan YS, Miller WJ, Bourtzis K, Teixeira L, Jiggins FM, 2014. Symbionts commonly provide broad spectrum resistance to viruses in insects: a comparative analysis of *Wolbachia* strains. *PLoS Pathog.*, 10(9): e1004369.

Masui S, Kamoda S, Sasaki T, Ishikawa H, 2000. Distribution and evolution of bacteriophage WO in *Wolbachia*, the endosymbiont causing sexual alterations in arthropods. *J. Mol. Evol.*, 51(5): 491 – 497.

Mavingui P, Van VT, Labeyrie E, Rancès E, Vavre F, Simonet P, 2005. Efficient procedure for purification of obligate intracellular *Wolbachia pipientis* and representative amplification of its genome by multiple-displacement amplification. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(11): 6910 – 6917.

McCutcheon JP, McDonald BR, Moran NA, 2009. Convergent evolution of metabolic roles in bacterial co-symbionts of insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(36): 15394 – 15399.

McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AW, Sidhu M, Wang YF, O'Neill SL, 2009. Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti*. *Science*, 323(5910): 141 – 144.

Mercot H, Charlat S, 2004. *Wolbachia* infections in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: polymorphism and levels of cytoplasmic incompatibility. *Genetica*, 120(1 – 3): 51 – 59.

Monnin D, Kremer N, Desouhant E, Vavre F, 2017. Impact of *Wolbachia* on oxidative stress sensitivity in the parasitic wasp *Asobara japonica*. *PLoS ONE*, 12(4): e0175974.

Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, Rocha BC, Hall-Mendelin S, Day A, Riegler M, Hugo LE, Johnson KN, Kay BH, McGraw EA, van den Hurk AF, Ryan PA, O'Neill SL, 2009. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, chikungunya, and *Plasmodium*. *Cell*, 139(7): 1268 – 1278.

Narita S, Kageyama D, Nomura M, Fukatsu T, 2007. Unexpected mechanism of symbiont-induced reversal of insect sex: feminizing

*Wolbachia* continuously acts on the butterfly *Eurema hecabe* during larval development. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(13): 4332 - 4341.

Negri I, Pellecchia M, Mazzoglio PJ, Patetta A, Alma A, 2006. Feminizing *Wolbachia* in *Zyginidia pullula* (Insecta, Hemiptera), a leafhopper with an XX/X0 sex-determination system. *Proc. Biol. Sci.*, 273(1599): 2409 - 2416.

Nikoh N, Hosokawa T, Moriyama M, Oshima K, Hattori M, Fukatsu T, 2014. Evolutionary origin of insect-*Wolbachia* nutritional mutualism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(28): 10257 - 10262.

Nyholm SV, Graf J, 2012. Knowing your friends: invertebrate innate immunity fosters beneficial bacterial symbioses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 10(12): 815 - 827.

Osborne SE, Leong YS, O'Neill SL, Johnson KN, 2009. Variation in antiviral protection mediated by different *Wolbachia* strains in *Drosophila simulans*. *PLoS Pathog.*, 5(11): e1000656.

Pannebakker BA, Pijnacker LP, Zwaan BJ, Beukeboom LW, 2004. Cytology of *Wolbachia*-induced parthenogenesis in *Leptopilina clavipes* (Hymenoptera: Figitidae). *Genome*, 47(2): 299 - 303.

Perlmutter JI, Bordenstein SR, Unckless RL, LePage DP, Metcalf JA, Hill T, Martinez J, Jiggins FM, Bordenstein SR, 2019. The phage gene *wmk* is a candidate for male killing by a bacterial endosymbiont. *PLoS Pathog.*, 15(9): e1007936.

Qu LY, Lou YH, Huang HJ, Ding ZJ, Ye YX, Zhang CX, 2013. Molecular detection of the endosymbiont *Wolbachia* in different Asian populations of the brown planthopper. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 50(5): 1320 - 1327. [屈吕宇, 楼怡寒, 黄海剑, 丁张军, 叶雨轩, 张传溪, 2013. 亚洲不同地理种群褐飞虱内共生菌 *Wolbachia* 的分子检测. 应用昆虫学报, 50(5): 1320 - 1327]

Reveillaud J, Bordenstein SR, Cruaud C, Shaiber A, Esen OC, Weill M, Makoundou P, Lolans K, Watson AR, Rakotoarivony I, Bordenstein SR, Eren AM, 2019. The *Wolbachia* mobilome in *Culex pipiens* includes a putative plasmid. *Nat. Commun.*, 10(1): 1051.

Riegler M, Stauffer C, 2002. *Wolbachia* infections and superinfections in cytoplasmically incompatible populations of the european cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). *Mol. Ecol.*, 11(11): 2425 - 2434.

Riparbelli MG, Giordano R, Ueyama M, Callaini G, 2012. *Wolbachia*-mediated male killing is associated with defective chromatin remodeling. *PLoS ONE*, 7(1): e30045.

Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W, 2008. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annu. Rev. Genet.*, 42: 683 - 707.

Sinha A, Li Z, Sun L, Carlow CKS, 2019. Complete genome sequence of the *Wolbachia* *w*AlbB endosymbiont of *Aedes albopictus*. *Genome Biol. Evol.*, 11(3): 706 - 720.

Song SW, Zhao TY, Dong YD, Lu BL, 2002. Hybridization and *Wolbachia* infection in the *Culex pipiens* complex in China. *Acta Entomol. Sin.*, 45(6): 705 - 710. [宋社吾, 赵彤言, 董言德, 陆宝麟, 2002. 我国尖音库蚊复合组蚊虫的杂交及其与 *Wolbachia* 感染的关系. 昆虫学报, 45(6): 705 - 710]

Stouthamer R, Breeuwer JA, Luck RF, Werren JH, 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature*, 361(6407): 66 - 68.

Stouthamer R, Kazmer DJ, 1994. Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. *Heredity* (*Edinb*), 73(3): 317.

Sumi T, Miura K, Miyatake T, 2017. *Wolbachia* density changes seasonally amongst populations of the pale grass blue butterfly, *Zizeeria maha* (Lepidoptera: Lycaenidae). *PLoS ONE*, 12(4): e0175373.

Sun LV, Foster JM, Tzertzinis G, Ono M, Bandi C, Slatko BE, O'Neill SL, 2001. Determination of *Wolbachia* genome size by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Bacteriol.*, 183(7): 2219 - 2225.

Sutton ER, Harris SR, Parkhill J, Sinkins SP, 2014. Comparative genome analysis of *Wolbachia* strain *w*Au. *BMC Genomics*, 15: 928.

Tagami Y, Miura K, 2004. Distribution and prevalence of *Wolbachia* in Japanese populations of Lepidoptera. *Insect Mol. Biol.*, 13(4): 359 - 364.

Tao YL, Guo YN, Wang J, Li LL, Yu Y, Chu D, 2015. Detection and identification of *Wolbachia* in *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae) populations from Shandong Province, China. *Acta Entomol. Sin.*, 58(4): 454 - 459. [陶云荔, 郭雅男, 王静, 李丽莉, 于毅, 褚栋, 2015. 山东不同地区韭菜迟眼蕈蚊共生菌 *Wolbachia* 的检测及鉴定. 昆虫学报, 58(4): 454 - 459]

Teixeira L, Ferreira Á, Ashburner M, 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to rna viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.*, 6(12): e1000002.

Trpis M, Perrone J, Reissig M, Parker K, 1981. Control of cytoplasmic incompatibility in the *Aedes scutellaris* complex: incompatible crosses become compatible by treatment of larvae with heat or antibiotics. *J. Hered.*, 72(5): 313 - 317.

Vala F, Egas M, Breeuwer J, Sabelis M, 2004. *Wolbachia* affects oviposition and mating behaviour of its spider mite host. *J. Evol. Biol.*, 17(3): 692 - 700.

Vavre F, Girin C, Boulétreau M, 1999. Phylogenetic status of a fecundity-enhancing *Wolbachia* that does not induce thelytoky in *Trichogramma*. *Insect Mol. Biol.*, 8(1): 67 - 72.

Walker T, Johnson PH, Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Frentiu FD, McMeniman CJ, Leong YS, Dong Y, Axford J, Kriesner P, Lloyd AL, Ritchie SA, O'Neill SL, Hoffmann AA, 2011. The *w*Mel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature*, 476(7361): 450 - 453.

Wang XX, Qi LD, Jiang R, Du YZ, Li YX, 2017. Incomplete removal of *Wolbachia* with tetracycline has two-edged reproductive effects in the thelytokous wasp *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Sci. Rep.*, 7: 44014.

Weeks A, Breeuwer J, 2001. *Wolbachia*-induced parthenogenesis in a genus of phytophagous mites. *Proc. Biol. Sci.*, 268(1482): 2245 - 2251.

Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annu. Rev. Entomol.*, 42: 587 - 609.

Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat. Rev. Microbiol.*, 6(10): 741-751.

Wu M, Sun LV, Vamathevan J, Riegler M, Deboy R, Brownlie JC, McGraw EA, Martin W, Esser C, Ahmadinejad N, Wiegand C, Madupu R, Beanan MJ, Brinkac LM, Daugherty SC, Durkin AS, Kolonay JF, Nelson WC, Mohamoud Y, Lee P, Berry K, Young MB, Utterback T, Weidman J, Nierman WC, Paulsen IT, Nelson KE, Tettelin H, O'Neill SL, Eisen JA, 2004. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis w*Mel: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements. *PLoS Biol.*, 2(3): E69.

Xi Z, Khoo CC, Dobson SL, 2005. *Wolbachia* establishment and invasion in an *Aedes aegypti* laboratory population. *Science*, 310(5746): 326-328.

Xiong EJ, Zheng Y, Wang YF, Zeng QT, 2014. Phylogenetic analysis of *Wolbachia* in *Drosophila melanogaster* from three regions in China and their effects on host reproduction. *Acta Entomol. Sin.*, 57(2): 176-186. [熊恩娟, 郑雅, 王玉凤, 曾庆韬, 2014. 我国三地区黑腹果蝇中 *Wolbachia* 的系统发育关系及其对宿主生殖的影响. 昆虫学报, 57(2): 176-186]

Yen JH, Barr AR, 1971. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature*, 232(5313): 657-658.

Yoshida K, Sanada-Morimura S, Huang SH, Tokuda M, 2019. Influences of two coexisting endosymbionts, CI-inducing *Wolbachia* and male-killing *Spiroplasma*, on the performance of their host *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae). *Ecol. Evol.*, 9(14): 8214-8224.

Zhang D, Zheng X, Xi Z, Bourtzis K, Gilles JR, 2015. Combining the sterile insect technique with the incompatible insect technique: I-Impact of *Wolbachia* infection on the fitness of triple- and double-infected strains of *Aedes albopictus*. *PLoS ONE*, 10(4): e0121126.

Zheng X, Zhang D, Li Y, Yang C, Wu Y, Liang X, Liang Y, Pan X, Hu L, Sun Q, Wang X, Wei Y, Zhu J, Qian W, Yan Z, Parker AG, Gilles JRL, Bourtzis K, Bouyer J, Tang M, Zheng B, Yu J, Liu J, Zhuang J, Hu Z, Zhang M, Gong JT, Hong XY, Zhang Z, Lin L, Liu Q, Hu Z, Wu Z, Baton LA, Hoffmann AA, Xi Z, 2019. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. *Nature*, 572(7767): 56-61.

Zhou W, Rousset F, O'Neil S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. Biol. Sci.*, 265(1395): 509-515.

Zug R, Hammerstein P, 2012. Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PLoS ONE*, 7(6): e38544.

（责任编辑：赵利辉）